> 使用に際してはこの添付文書をよくお読みください。
> また、必要なときに読めるように保管しておいてください。

ＫＳ０２Ｔ　　2006年４月改訂（新様式第１版）

体外診断用医薬品

承認番号：21400AMZ00062000

マイコバクテリウム核酸キット
ＤＮＡプローブ「ＦＲ」ＭＡＣダイレクト
マイコバクテリウム　アビウム　コンプレックス直接検出用

■全般的な注意

１．本キットは、体外診断用であるため、それ以外の目的には使用しないでください。
２．添付文書に記載されている操作法を守ってください。この操作法以外の方法による検出結果の信頼性は保証いたしかねます。
３．検体にはヒト由来成分を含む試料を用いますので感染の恐れがあるものとして取扱い、測定操作には使い捨て手袋や保護メガネなどを着用し、必要に応じて安全キャビネット内で操作してください。検体が手袋などに付着した場合はただちに新しいものに取りかえてください。
４．試薬が誤って目や口に入った場合または皮膚に付着した場合は、ただちに水で十分に洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば医師の手当てを受けてください。
５．人体への投与はできません。
６．増幅およびハイブリダイゼーション操作に自動機器をご使用の場合は、当社指定の自動機器をご使用ください。他の自動機器をご使用になった場合は測定結果の信頼性を保証いたしかねます。なお、これらの自動機器の使用方法については、同機器の添付文書および取扱説明書をご覧ください。
７．本キットでは当社指定の化学発光測定装置を使用します。他の測定装置をご使用になった場合は測定結果の信頼性を保証いたしかねます。なお、これらの測定装置の使用法については、同装置の添付文書および取扱説明書をご覧ください。
８．測定結果に基づく臨床診断は臨床症状や他の検査結果などから担当医師が総合的に判断してください。

■形状・構造等（キットの構成）

	構成試薬名	容量	５０回分
1	溶菌チューブ	２５本	２包
2	検体希釈液	２ｍＬ	１瓶
3	増幅試薬（凍結乾燥品） ［１回測定分中：ＡＴＰ　４００nmol、ＣＴＰ　４００nmol、ＧＴＰ　４００nmol、ＵＴＰ　４００nmol、ｄＡＴＰ　１００nmol、ｄＣＴＰ　１００nmol、ｄＧＴＰ　１００nmol、ｄＴＴＰ　１００nmol、T7プライマー　15pmol、プライマー　15pmol］	３ｍＬ相当	１瓶
4	増幅試薬溶解液	３．５ｍＬ	１瓶
5	オイル	８ｍＬ	１瓶
6	増幅酵素（凍結乾燥品） ［１回測定分中：逆転写酵素（ＭＭＬＶ）　2,500U、Ｔ７ＲＮＡポリメラーゼ　2,000U］	１．５ｍＬ相当	１瓶
7	酵素溶解液	２ｍＬ	１瓶
8	プローブ試薬（凍結乾燥品） ［１回測定分中：ＭＡＣプローブ１　1.0×10^7 RLU、ＭＡＣプローブ２　3.3×10^6 RLU、ＭＡＣプローブ３　3.3×10^6 RLU］	６ｍＬ相当	１瓶
9	ハイブリ用緩衝液	７ｍＬ	１瓶
10	加水分解液	２０ｍＬ	１瓶
11	増幅陰性コントロール液	０．２５ｍＬ	１瓶
12	増幅陽性コントロール液＊	０．２５ｍＬ	１瓶

［付属品］
シーリングカード（１包）

＊：増幅陽性コントロール液は、１ｍＬ当たり４００ｐｇ（8×10^4cell相当）の *Mycobacterium avium* complex（ＭＡＣ）rRNAを含んでいます（*M. avium* および *M. intracellilare* rRNAをそれぞれ２００ｐｇ相当）。

■使用目的

喀痰、胸水、腹水、肺組織、尿、膿及び気管支洗浄液、並びに喀痰、気管支洗浄液、胸水及び膿の培養液由来材料中のマイコバクテリウム　アビウム　コンプレックスの検出

■測定原理

本キットは、*Mycobacterium avium* complex（*M. avium* および *M. intracellulare*：以下ＭＡＣ）のリボソームＲＮＡ（ｒＲＮＡ）を標的とし、核酸増幅法を用いて特異的にＲＮＡを増幅し、さらに増幅産物に特異的なプローブを用いて検出を行う試薬です。

１．核酸増幅（ＴＭＡ：Transcription Mediated Amplification[1]）

本キットは、ＲＮＡを標的として、プライマー、酵素（逆転写酵素、ＲＮＡポリメラーゼ）および基質の存在下、途中合成される二本鎖ＤＮＡを介してＲＮＡを増幅するものです。すなわち、Ｔ７プライマーが標的ＲＮＡへハイブリダイゼーションし、逆転写酵素（ＲＴ）により相補的ＤＮＡ（ｃＤＮＡ）を合成、ＲＴのＲＮａｓｅ　Ｈ活性により標的ＲＮＡを分解、続いてプライマーがｃＤＮＡへハイブリダイゼーションし、ＲＴによりプロモーター配列を持つ鋳型二本鎖ＤＮＡが合成されます。この鋳型二本鎖ＤＮＡをもとにＲＮＡポリメラーゼ（ＲＮＡ　Ｐｏｌ）の転写反応によりＲＮＡが合成されます。また、増幅産物（ＲＮＡ）は、上記と同様な行程により鋳型二本鎖ＤＮＡとなり、ＲＮＡが合成されます（図１）。
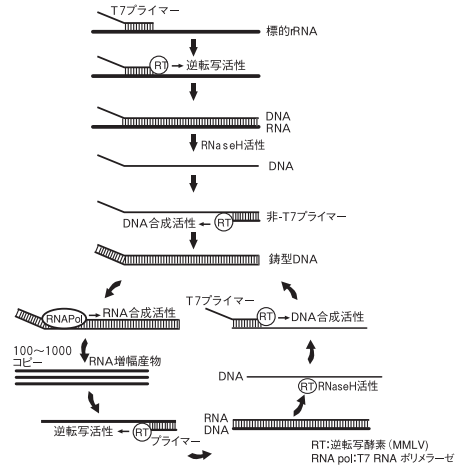
図１．ＴＭＡ増幅原理

２．ハイブリダイゼーションおよび検出（ＨＰＡ：Hybridization Protection Assay[2]）

増幅したＲＮＡ鎖に相補的なアクリジニウムエステル標識一本鎖ＤＮＡプローブを用いて、増幅産物（ＲＮＡ）を検出します。すなわち、増幅終了後の検体とプローブをハイブリダイゼーションさせ、二本鎖のＲＮＡ－ＤＮＡハイブリッドを形成させます。その後、加水分解を行い、ハイブリッドを形成しなかった未反応のプローブのアクリジニウムエステルを失活させます。一方、ハイブリッドを形成したプローブのアクリジニウムエステルは保護されているため加水分解を受けず、化学発光性を保持しています（図２）。
この化学発光の強さ（発光強度）を測定することで、増幅したＲＮＡを検出することができます。
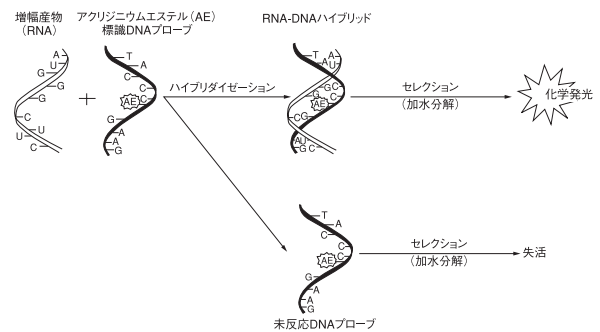
図２．ＨＰＡ測定原理

■操作上の注意

１．測定試料の性質、採取法

１）喀痰は粘度が高いので、細菌類の分布に偏りがある場合があります。偏りが存在したままで検体を採取しますと正しい結果が出せない場合がありますので、適宜検体量を変えそれに見合った試薬量を使用して検体前処理を実施してください。
２）ＭＡＣは土壌、塵埃、水や食品などに生息する自然環境生息菌です。操作中にはコンタミネーションの可能性がありますので、十分注意して操作してください。
３）著しく血液が混入した検体は、正しい結果が得られないことがあります。著しく血液混入した検体の使用は控えてください。患者さんから採取した検体に血餅が含まれる場合は、血餅が入らないように特に気をつけて検体を採取し、前処理を行ってください。
４）検体前処理は一般的なＮＡＬＣ－ＮａＯＨ処理ですが、ＮＡＬＣ－ＮａＯＨ溶液が残っていますと前処理済み検体のｐＨが高く測定結果に影響します。リン酸緩衝液への溶液の置換は確実に行ってください。

２．妨害物質、妨害薬剤

１）検体中の共存物質が測定値におよぼす影響は検討されておりませんので不明です。

２）薬物の投与に関しての影響は検討されておりませんので不明です。

３．交差反応性

本キットは耐性菌を判別するものではありません。

４．操作上の留意事項

１）用手法

増幅およびハイブリダイゼーションは温度・時間の影響を受けます。温度・時間管理を厳重に行ってください。

２）自動機器法

各試薬は試薬量が十分残っていることを確認してから自動機器にセットしてください。

３）用手法、自動機器法共通

（１）感染およびコンタミネーションを避けるため、臨床検体の前処理、検体分注および溶菌操作は安全キャビネット内で行ってください。なお、検体を安全キャビネット外に出す際には、感染防止のための処置（加熱処理など）を行うことをおすすめします。

（２）調製した増幅液は２～１０℃で保存し、２ヵ月間以内にご使用ください。なお、２～１０℃で保存した増幅液に沈殿が析出している場合は、４２℃に温めて軽く攪拌し、溶解してからご使用ください。

（３）調製した増幅酵素液は２～１０℃で保存し、２ヵ月間以内にご使用ください。なお､常温では８時間以内にご使用ください。

（４）プローブ液を調製する際には、ハイブリ用緩衝液を常温に戻し沈殿が析出していないことを確認して調製してください。沈殿が析出している場合には６０℃の水浴で温め溶解し、均一になるようミキサーで攪拌してください（ミキサーは１分間以上かけないでください）。溶解したプローブ液は２～１０℃で保存し、２ヵ月間以内にご使用ください。

（５）発光強度の測定にはリーダーⅠやリーダー５０／５０ｉなどの化学発光測定装置を用い、専用のリーダー用試薬をご使用ください。なお、機器およびリーダー用試薬の使用に際してはこれらに添付の取扱説明書などをご覧ください。

５．その他

１）使用する器具は清浄なものを使用し、特に検体やコントロールの分注にはコンタミネーションを避けるためフィルター付チップを使用してください。使用したフィルター付チップはただちに廃棄し、再利用はしないでください。

２）シーリングカードおよび試験管用キャップは常に新しいものを使用してください。使用したシーリングカードおよびキャップはただちに廃棄してください。

３）コンタミネーションの原因となる増幅産物の除去には次亜塩素酸ナトリウム液が有効です。適宜使用する器具やキャビネット内は有効塩素濃度２.５％の次亜塩素酸ナトリウム液で拭き、増幅産物を除去してください。

４）超音波洗浄器、水浴の水は毎回取りかえてください。また、水を取りかえる際には、有効塩素濃度２.５％の次亜塩素酸ナトリウム液で機器本体を拭いてください。

５）コンタミネーションを避けるため、検体の前処理、増幅操作および検出操作はそれぞれ検体前処理室、増幅操作室および検出室で行ってください。また、白衣や履物またピペットなどの器具類も部屋専用のものを使用してください。

６）測定に必要な試薬類・器具・機器の使用の際にはこれらに添付の取扱説明書などをご覧ください。

■用法・用量（操作方法）

１．試薬の調製法（試薬の調製法は用手法､自動機器法ともに共通です｡）

１）増幅液の調製

増幅試薬１瓶に増幅試薬溶解液３ｍＬを加え、均一になるようミキサーで攪拌した後、透明になるまで常温に放置し増幅液とします。

２）増幅酵素液の調製

増幅酵素１瓶に酵素溶解液１.５ｍＬを加え軽く攪拌して溶解し、増幅酵素液とします。溶解の際、ミキサーは使用しないでください。

３）プローブ液の調製

プローブ試薬１瓶にハイブリ用緩衝液６ｍＬを加え溶解しプローブ液とします。

４）その他の構成試薬は､常温に戻した後そのまま使用してください。

２．必要な器具・器材

器具・器材など	規格など	用手法	自動機器法
ＮＡＬＣ－ＮａＯＨ溶液	2% NaOH、1.45% Na-citrate、0.5% N-acetyl-L-cysteine	○	○
０.０６７ｍｏｌ／Ｌリン酸緩衝液（ｐＨ６.８）		○	○
キャップ付プラスチック遠沈管	容量１５ｍＬ	○	○
ミキサー	用手法；ハイブリダイゼーションではラックミキサーの使用可	○	○
超音波洗浄器	ブランソン社製 型式１５１０Ｊ［４２ｋＨｚ、９０Ｗ］または同等の性能を有するもの	○	○
ポリプロピレン製試験管	１２×７５ｍｍ	○	○
マイクロピペット	２５μＬ、２００μＬ分注用	○	○
フィルター付チップ	２５μＬ、２００μＬ分注用	○	○
化学発光測定装置	リーダーⅠ、リーダー５０／５０ｉなど	○	注)
リーダー用試薬(リーダー用試薬Ⅰ、リーダー用試薬Ⅱ)	別売品	○	○
使い捨て手袋	パウダーフリー	○	○
安全キャビネット		○	○
ポリプロピレン製試験管用キャップ	ハイブリダイゼーションでラックミキサーを使用の場合は不要	○	－
ヒートブロック	径１２ｍｍ、９５℃用	○	－
水浴	４２℃、６０℃用	○	－
連続分注器／チップ	２０μＬ、２５μＬ、５０μＬ、１００μＬ、２００μＬ、３００μＬ分注用	○	－
自動機器	Ｄｓ－５０ＴＭＡ自動機およびＤｓ－５０ＨＰＡ自動機、その他当社指定の自動機器：別売品	－	○

注）Ｄｓ－５０ＴＭＡ自動機およびＤｓ－５０ＨＰＡ自動機では必要。その他当社指定の自動機器では不要。

３．測定法

１）用手法での測定の場合

（１）検体前処理（**検体の前処理法は用手法、自動機器法ともに共通です。検体前処理は操作が終了するまで安全キャビネット内で操作してください。**）

－喀痰、胸水、腹水、肺組織、膿、気管支洗浄液および喀痰、気管支洗浄液、胸水、膿を試料として培養した培養液の場合－

① 検体約１ｍＬをキャップ付プラスチック遠沈管（容量１５ｍＬ）に採取し、ＮＡＬＣ－ＮａＯＨ溶液を検体量の等量～２倍量を加えます。

② キャップを締め、ミキサーで検体が可溶化するまで（約２０秒間）混和します。一連の検体についてこの操作を終了した後、もう一度、約１０秒間同様に混和します。

③ １５分間、常温に放置します。

④ キャップを開け０.０６７ｍｏｌ／Ｌリン酸緩衝液（ｐＨ６.８）を加え、全量約１０ｍＬとします。

⑤ キャップを締め、遠沈管を転倒混和します。

⑥ ３,０００ｇで１５分間遠心分離した後、デカントし上清を除きます。

（注意）遠心条件を守り、沈殿を捨てないように適切に行ってください。

⑦ ０.０６７ｍｏｌ／Ｌリン酸緩衝液（ｐＨ６.８）約１ｍＬを加え、ミキサーで攪拌し、沈殿を懸濁させます。この懸濁液を前処理済み検体とします。

（注意１）ｐＨ試験紙などでｐＨを確認し、中性でない場合は４％塩酸で中和し、前処理済み検体とします。

（注意２）培養液がＭＧＩＴ（日本ベクトン･ディッキンソン社）の場合本検体前処理は必要ありません。培養液を前処理済み検体として（２）の溶菌操作から行ってください。小川培地の場合は、０.０６７ｍｏｌ／Ｌリン酸緩衝液（ｐＨ６.８）約１ｍＬに１白金耳を加えて懸濁し、懸濁液を前処理済み検体として（２）の溶菌操作から行ってください。

（注意３）培養の方法につきましては、それぞれのキットに付属の添付文書などに従って操作してください。

－尿検体の場合－

尿検体１０～１５ｍＬを遠心管に採取し、３,０００×ｇで２０分間遠心します。上清を捨て、沈澱に約１ｍＬの０.０６７ｍｏｌ／Ｌリン酸緩衝液（ｐＨ６.８）を加えた後、上記「喀痰、胸水、腹水、肺組織、膿、気管支洗浄液および喀痰、気管支洗浄液、胸水、膿を試料として培養した培養液の場合」の①～⑦の操作を行います。

（２）溶菌

① 溶菌チューブのキャップを開け検体希釈液２０μＬを連続分注器で分注します。

② 前処理済み検体２００μＬを加え、溶菌チューブにキャップをし、ミキサーで３秒間攪拌します。

③ 溶菌チューブのキャップが水面より上に出るように超音波洗浄器にセットし１５分間超音波処理を行い、溶菌済み検体とします。

（注意）超音波処理は１５分を超えないように注意してください。超音波洗浄器内の水を脱気するため、あらかじめ１５分間超音波処理をしておきます。また、溶菌チューブが超音波洗浄器の底部や側面に接触しないように注意してください。なお、③および脱気処理は常温で行います。

（３）増幅（ＴＭＡ：Transcription Mediated Amplification）

（９５℃、１５分インキュベートが終了するまで、安全キャビネット内で操作して下さい。）

① ポリプロピレン製試験管（１２×７５ｍｍ）に増幅液５０μＬを連続分注器で分注します。

② オイル１００μＬを各試験管に連続分注器で分注します。

③ 増幅陰性コントロール液、増幅陽性コントロール液または溶菌済み検体２５μＬを試験管に分注します。

（注意）試験管の底部に分注するようにしてください。

④ 各試験管を９５±５℃のヒートブロックに移してシーリングカードでカバーし、１５分間インキュベートします。

（注意）２０分間を超えないように注意してください。

⑤ シーリングカードをとり、各試験管を４２±１℃の水浴に

移し、再度新しいシーリングカードでカバーし５分間インキュベートします。

（注意）④から⑤への操作は速やかに行い試験管の温度が４２℃以下にならないように注意してください。

⑥　シーリングカードをとり、各試験管に増幅酵素液２５μＬを連続分注器で分注し、振とう混和します。

⑦　各試験管を４２±１℃の水浴に移し、シーリングカードでカバーし、６０分間インキュベートします。

（注意１）温度管理および時間管理を厳重に行ってください。

（注意２）６０分間インキュベーション後の試験管は４℃または常温で６時間、－２０℃で６日間保存可能です。４℃または－２０℃で保存した場合は完全に常温に戻してから（４）へ進みます。

（４）ハイブリダイゼーションおよび検出（HPA：Hybridization Protection Assay）

①　増幅が終了した〔（３）－⑦〕各試験管にプローブ液１００μＬを連続分注器で分注します。ミキサーを使用する場合は各試験管にキャップをし、ラックミキサーを使用する場合はシーリングカードでカバーし,液色が黄色になるようミキサーで３秒間３回混和します。

②　各試験管を６０±１℃の水浴で、１５分間インキュベートします。

③　キャップあるいはシーリングカードをとり、加水分解液３００μＬを連続分注器で分注します。ミキサーを使用する場合は各試験管にキャップをし、ラックミキサーを使用する場合はシーリングカードでカバーし、液色がピンク色になるようミキサーで３秒間３回混和します。

④　各試験管を６０±１℃の水浴で、１５分間インキュベートします。

⑤　各試験管を常温で１０分間冷却後、キャップあるいはシーリングカードをとります。

⑥　化学発光測定装置（リーダーⅠ、リーダー５０／５０ｉなど）で２時間以内に発光強度（ＲＬＵ：Relative Light Unit）を測定します。測定前に湿らせたティッシュペーパーまたはペーパータオルで試験管の外側を拭きます。なお、化学発光測定装置につきましては、装置の取扱説明書をご覧ください。
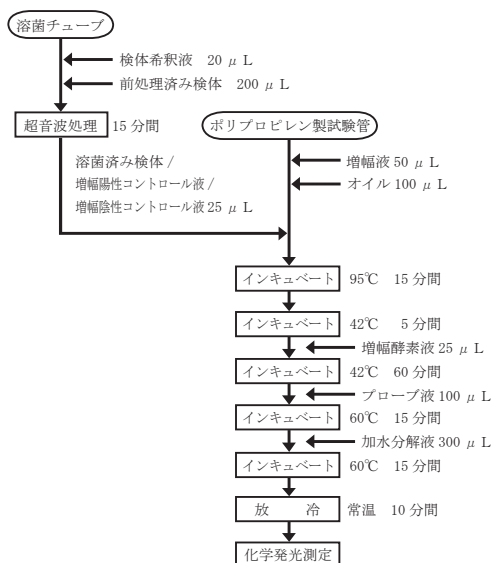
図３．用手法での測定操作法概略図

２）自動機器での測定の場合

（１）検体前処理（**検体の前処理法は用手法、自動機器法ともに共通ですので、本添付文書の“３．測定法１）用手法での測定の場合”に記載した“（１）検体前処理”に従い、安全キャビネット内で操作してください。**）

（２）溶菌（**溶菌操作が終了するまで、安全キャビネット内で操作してください。**）

①　溶菌チューブのキャップを開け検体希釈液２０μＬを連続分注器で分注します。

②　前処理済み検体２００μＬを加え、溶菌チューブにキャップをし、ミキサーで３秒間攪拌します。

③　超音波洗浄器内の水温を９５±５℃に調整し、溶菌チューブのキャップが水面より上に出るように超音波洗浄器にセットし、１５分間超音波処理を行い、溶菌済み検体とします。この際、１５分間を超えないよう注意してください。

（注意）感染防止のため、溶菌操作での超音波処理は９５±５℃で行ってください。
超音波洗浄器内の水はあらかじめ１５分間超音波処理をして脱気してから９５±５℃に加温するか、５分間以上沸騰させて脱気した後、９５±５℃に調整して使用を使用してください。
溶菌チューブが超音波洗浄器の底部や側面に接触しないように注意してください。

Ｄｓ－５０ＴＭＡ自動機、Ｄｓ－５０ＨＰＡ自動機

（３）増幅（ＴＭＡ：Transcription Mediated Amplification）
自動機器（Ｄｓ－５０ＴＭＡ自動機）につきましては、機器の添付文書および取扱説明書をご覧ください。
自動機器（Ｄｓ－５０ＴＭＡ自動機）に増幅液、オイルおよび増幅酵素液をセットします。

①　ポリプロピレン製試験管（１２×７５ｍｍ）に増幅陰性コントロール液、増幅陽性コントロール液または溶菌済み検体の各々２５μＬを試験管の底部に分注します。
自動機器（Ｄｓ－５０ＴＭＡ自動機）に増幅陰性コントロール液、増幅陽性コントロール液および溶菌済み検体を分注した試験管をセットし、アッセイをスタートさせます。
自動機器により以下の操作が実施されます。

②　増幅液５０μＬの各試験管への分注。

③　オイル１００μＬの各試験管への分注、混和。

④　各試験管が９５±５℃のヒートブロックに移動、１５分間インキュベート。

⑤　各試験管が４２±１℃のヒートブロックに移動、５分間インキュベート。

⑥　増幅酵素液２５μＬの各試験管への分注、混和。

⑦　各試験管が４２±１℃のヒートブロックに移動、６０分間インキュベート。

（注意）６０分間インキュベーション後の試験管は４℃または常温で６時間、－２０℃で６日間保存可能です。４℃または－２０℃で保存した場合は完全に常温に戻してから（４）へ進みます。

（４）ハイブリダイゼーションおよび検出（HPA：Hybridization Protection Assay）
自動機器（Ｄｓ－５０ＨＰＡ自動機）につきましては、機器の添付文書および取扱説明書をご覧ください。
自動機器（Ｄｓ－５０ＨＰＡ自動機）にプローブ液、加水分解液および増幅操作が終了した試験管をセットし、アッセイをスタートさせます。
自動機器により以下の操作が実施されます。

①　増幅が終了した各試験管へのプローブ液１００μＬの分注、混和。

②　各試験管が６１±１℃のヒートブロックに移動、１５分間インキュベート。

③　加水分解液３００μＬの各試験管への分注、混和。

④　各試験管が６１±１℃のヒートブロックに移動、１５分間インキュベート。

以下の操作は用手法での操作と同様です。

⑤　各試験管を常温で、１０分間冷却後、自動機器のラックカセットから各試験管をはずします。

⑥　化学発光測定装置（リーダーⅠ、リーダー５０／５０ｉなど）で２時間以内に発光強度（ＲＬＵ：Relative Light Unit）を測定します。測定前に湿らしたティッシュペーパーまたはペーパータオルで試験管の外側を拭きます。なお、化学発光測定装置につきましては、装置の取扱説明書をご覧ください。

その他当社指定の自動機器

（５）増幅（ＴＭＡ：Transcription Mediated Amplification）、ハイブリダイゼーションおよび検出（HPA：Hybridization Protection Assay）
自動機器につきましては、機器の添付文書および取扱説明書をご覧ください。
自動機器に増幅液、オイル、増幅酵素液、プローブ液、加水分解液、リーダー用試薬（リーダー用試薬Ⅰ、リーダー用試薬Ⅱ）をセットします。

①　ポリプロピレン製試験管（１２×７５ｍｍ）に増幅陰性コントロール液、増幅陽性コントロール液または溶菌済み検体の各々２５μＬを試験管の底部に分注します。
自動機器に増幅陰性コントロール液、増幅陽性コントロール液および溶菌済み検体を分注した試験管をセットし、アッセイをスタートさせます。
自動機器により以下の操作が実施されます。

②　増幅液５０μＬの各試験管への分注。

③　オイル１００μＬの各試験管への分注、混和。

④　各試験管が９５±５℃のヒートブロックに移動、１５分間インキュベート。

⑤　各試験管が４２±１℃のヒートブロックに移動、５分間インキュベート。

⑥　増幅酵素液２５μＬの各試験管への分注、混和。

⑦　各試験管が４２±１℃のヒートブロックに移動、６０分間インキュベート。

⑧　増幅が終了した各試験管へのプローブ液１００μＬの分注、混和。

⑨　各試験管が６０±１℃のヒートブロックに移動、１５分間インキュベート。

⑩　加水分解液３００μＬの各試験管への分注、混和。

⑪　各試験管が６０±１℃のヒートブロックに移動、１５分間インキュベート。

⑫　各試験管を常温で１０分間冷却後発光強度（ＲＬＵ：Relative Light Unit）を測定。
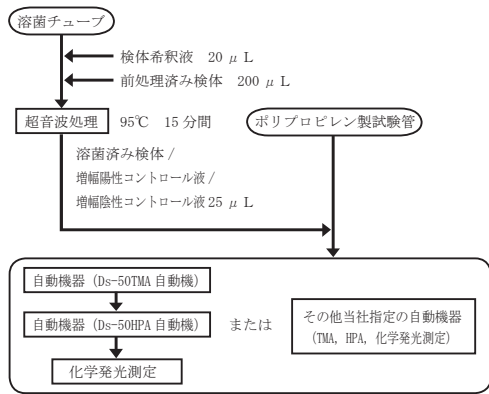
図４．自動機器法での測定操作法概略図

■測定結果の判定法

１．判定

陰性：発光強度が１００，０００ＲＬＵ未満を示す検体は陰性と判定します。
陽性：発光強度が２００，０００ＲＬＵ以上を示す検体は陽性と判定します。
判定保留：発光強度が１００，０００ＲＬＵ以上２００，０００ＲＬＵ未満を示す検体は判定を保留とします。

２．判定上の注意

１）判定保留の場合は、残りの検体を用いて再測定するか、必要に応じて新たに採取した検体を用いて測定し確認してください。
２）増幅陽性コントロール液が２００，０００ＲＬＵ未満の場合や増幅陰性コントロール液が１００，０００ＲＬＵ以上となった場合はすべての検体を再測定してください。
３）感染があっても感染の時期、検体採取部位、検体採取方法などによっては検査結果が陰性の場合があります。測定結果に基づく臨床診断は臨床症状や他の検査結果などから担当医師が総合的に判断して行ってください。
４）臨床診断にあたりましては国立療養所非定型抗酸菌症研究班による非定型抗酸菌症の診断基準[3]などを参考に複数回の測定をおすすめいたします。

■臨床的意義

日本における抗酸菌による感染症は漸増傾向にあります。これらの感染症では、抗酸菌に属する結核菌による結核や肺結核様疾患が多く見られます。肺結核様疾患の原因菌としては、ＭＡＣによるものが７０～８０％とされ、結核予防法の対象疾患として正式に認められ対策が進められています[4,5]。
一般的にはＭＡＣ症の診断は、喀痰などの臨床検体から培養による分離・同定検査によりＭＡＣを証明することで行われています[3]。しかし、この検査は培養の工程を経て行われるため４～８週間を要し、これに代わる迅速な方法の開発が望まれています。
そこで、培養工程を経ずにＭＡＣの特異的な遺伝子配列を増幅し、ＭＡＣに対するプローブを用いてＭＡＣを特異的に検出する方法が検討され、短時間でＭＡＣの同定を行える系が開発されました。
すなわち、ＭＡＣのリボソームＲＮＡ（ｒＲＮＡ）を標的として、核酸増幅法を用いて特異的にＲＮＡを増幅し、さらに増幅産物に特異的なプローブによる検出を行う系です。この系を用いた本キットを使用することで、臨床検体から検出まで、３～４時間でＭＡＣの検出が可能となります。

■性能

１．性能

１）感度
（１）増幅陰性コントロール液を試料として測定するとき、発光強度は１００，０００ＲＬＵ未満です。
（２）増幅陰性コントロール液で１００倍希釈した増幅陽性コントロール液を試料として測定するとき、発光強度は５００，０００ＲＬＵ以上です。
２）正確性
（１）増幅陰性コントロール液を試料として測定するとき、測定結果は陰性です。
（２）増幅陰性コントロール液で１００倍希釈した増幅陽性コントロール液および増幅陽性コントロール液を試料として測定するとき、測定結果は陽性です。
３）同時再現性（併行精度）
（１）増幅陰性コントロール液を試料として３回繰り返し測定するとき、測定結果はすべて陰性です。
（２）増幅陰性コントロール液で１００倍希釈した増幅陽性コントロール液を試料として３回繰り返し測定するとき、測定結果はすべて陽性です。
４）最小検出感度[6]
２０ＣＦＵ／ａｓｓａｙ（*M.avium* および *M.intracellulare* それぞれについて）

２．交差反応性

下記に示す抗酸菌２５株および呼吸器感染起炎菌１０株を１．５～３×１０^{8}ＣＦＵ／ｍＬを用いて測定しましたが、すべて陰性（交差反応性はない）との結果を得ました[6]。
抗酸菌：
M. tuberculosis H37Rv（ATCC27294）、
M. tuberculosis H37Ra（ATCC25177）、
M. africanum（ATCC25420）、
M. bovis（ATCC19420）、*M. microti*（KK14-01）、
M. kansasii（ATCC12478）、*M. simiae*（ATCC25275）、
M. marinum（ATCC927）、*M. scrofulaceum*（ATCC19981）、
M. szulgai（ATCC19530）、*M. gordonae*（ATCC14470）、
M. asiaticum（KK24-01）、*M. terrae*（ATCC15755）、
M. nonchromogenicum（ATCC19530）、*M. xenopi*（ATCC19250）、
M. gastri（ATCC15754）、*M. triviale*（ATCC23292）、
M. ulcecrans（ATCC19423）、*M. haemophilum*（ATCC29548）、
M. malmoense（ATCC29571）、*M. fortuitum*（ATCC6841）、
M. abscessus（ATCC19977）、*M. chelonae*（ATCC35752）、
M. flavescens（ATCC14474）、*M. vaccae*（ATCC15483）
呼吸器感染起炎菌：
S. pneumoniae（臨床分離株）、*C. albicans*（臨床分離株）、
E. coli（臨床分離株）、*K. pneumoniae*（臨床分離株）、
Proteus sp.（臨床分離株）、*S. aureus*（臨床分離株）、
H. influenzae（臨床分離株）、*P. aeruginosa*（臨床分離株）、
L. pneumophila（ATCC33152）、*S. marcescens*（臨床分離株）

３．相関性試験成績

下表に示すように、喀痰（２０１検体）、気管支洗浄液（２３検体）、培養液（培養元検体：喀痰９２検体、気管支洗浄液３検体、胸水４検体、膿１検体：計１００検体）およびその他（胸水１０検体、腹水１検体、肺組織２検体、尿２検体、膿２検体：計１７検体）を検体とした場合の既承認法との一致率は、それぞれ９８．５、１００、９９．０、１００％でした。なお、本法で１００，０００ＲＬＵ以上２００，０００ＲＬＵ未満の場合は判定を保留としました。これらの検体は菌量が最小検出感度付近のため保留となったものと推察されます。

①喀痰注）

	既承認法による陽性	既承認法による陰性
本法による陽性	２８	２
本法による陰性	１	１６６

感度　0.966
特異度　0.988
一致率　0.985
保留：4 検体

②気管支洗浄液注）

	既承認法による陽性	既承認法による陰性
本法による陽性	３	０
本法による陰性	０	２０

感度　1
特異度　1
一致率　1
保留：0 検体

③培養液検体

	既承認法による陽性	既承認法による陰性
本法による陽性	３９	１
本法による陰性	０	６０

感度　1
特異度　0.984
一致率　0.990
保留：0 検体

④その他（胸水、腹水、肺組織、尿、膿）の検体注）

	既承認法による陽性	既承認法による陰性
本法による陽性	１	０
本法による陰性	０	１６

感度　1
特異度　1
一致率　1
保留：0 検体

注）：既承認法による測定は本法で測定に使用した検体を培養し、その培養液を試料として測定した結果です。

■使用上または取扱い上の注意

１．取扱い上（危険防止）の注意

１）検体には、喀痰、胸水、腹水、肺組織、尿、膿、気管支洗浄液および喀痰、気管支洗浄液、胸水、膿の培養液由来材料などヒト由来成分を含む試料を用いますのでＨＩＶ、ＨＢＶ、ＨＣＶおよび結核菌や非結核性抗酸菌などの感染の恐れがあるものとして取扱ってください。特に検体前処理および溶菌では感染の危険性があります。使い捨て手袋や保護メガネなどを着用し、安全キャビネット内で操作してください。検体が手袋などに付着した場合はただちに新しいものに取りかえてください。
２）検体および試薬を分注する際にピペットは口で吸わないでください。また、検体および試薬を取扱う際には使い捨て手袋、防護メガネ、白衣などを着用してください。
３）試薬が誤って目や口に入った場合または皮膚に付着した場合は、ただちに水で十分に洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば医師の手当てを受けてください。

２．使用上の注意

１）キットは、必ず２～１０℃で保存し、凍結はしないでください。
２）ご使用の前にはいずれの試薬も常温に戻してから使用してください。
３）使用期限（外箱に記載）が過ぎたキットは使用しないでください。
４）異なる製造番号（外箱に記載）の構成試薬を、組合せて使用したり、残った試薬を混合して使用しないでください。

３．廃棄上の注意

１）検体の残り、検体が含まれている反応液、検体が付着しているピペットチップなどは、１２１℃、２０分間のオートクレーブによる滅菌または２．５％次亜塩素酸ナトリウム液による処理など廃棄物の処理および清掃に関する法律に基づく感染性廃棄物処理マニュアルに従って処理した後、廃棄してください。
２）試薬を廃棄する場合は、多量の水で流してください。
３）本キットでは核酸増幅を行います。増幅産物が多量に合成されますので操作後は増幅産物による検査室の汚染を防ぐための処理が必要です。発光強度測定終了後の反応液を含む試験管に、有効塩素濃度２．５％の次亜塩素酸ナトリウム液を満たし、１５分間以上処理してから廃棄してください。また、反応液に触れた試験管などの器具類も同様に有効塩素濃度２．５％次亜塩素酸ナトリウム液に１５分間以上浸した後廃棄してください。
４）プラスチックおよびガラスの試薬容器は廃棄物の処理および清掃に関する法律に従って処理してください。

■貯蔵方法・有効期間

１．貯蔵方法　；　２～１０℃に保存

２．有効期間　；　１２ヵ月

■包装単位

1キット　50回分

■主要文献

１．C. Abe et al：Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in Clinical Specimens by Polymerase Chain Reaction and Gen-Probe Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test. J. Clin. Microbiol. 31：3270-3274, 1993
２．長沢光章ら：化学発光標識DNAプローブを用いた*Mycobacterium tuberculosis* complex および *Mycobacterium avium* complex 同定法の検討. 臨床検査36(2), 197-200, 1992
３．国立療養所非定型抗酸菌症研究班：非定型抗酸菌症（肺感染症）の診断基準. 結核60, 51, 1985
４．古賀丈晴ら：非結核性抗酸菌症. 日本臨床　別冊　領域別症候群24, 214-220, 1999
５．田上祥子：非定型抗酸菌症. 臨床医　26(1),54-58, 2000
６．矢ヶ崎満郎ら：TMA-HPA法による*Mycobacterium avium* complex検出キットの基礎的検討. 臨床と微生物 29(1), 93-100, 2002

■問い合せ先

富士レビオ株式会社　学術サービス部
東京都中央区日本橋浜町2-62-5
TEL：03-5695-9210
FAX：03-5695-9234